Autoprep® アフラトキシン用 ELISAキット

本号の製品	ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) AgraQuant® Afla
本号のサンプル	カビ毒(アフラトキシン(AFL))

AgraQuant® Afla キットは、直接競合法によるELISA(酵素固定化免疫測定法)キットです。 トータルアフラトキシンのスクリーニング検査に適しています。
特に、定量範囲1-20ppbのキットは、低濃度アフラトキシンの測定精度が優れています。

AgraQuant® は、Romer Labs社の登録商標です。

キット内容
- 抗AFL抗体コートマイクロウェル
- 希釈用ウェル
- マイクロウェルホルダー
- AFL標準液(5～6本)
- AFL酵素複合体液(緑キャップ)
- 基質液(青キャップ)
- 停止液(赤キャップ)
- 取扱説明書

仕様

＊ 別途、消費税を申し受けます

品　　名 (トータルアフラトキシン用)	定量範囲	ｳｪﾙ数/箱	希望小売価格＊	ｶﾀﾛｸﾞﾅﾝﾊﾞｰ
AgraQuant® Afla 1/20	1-20 ppb	48	42,000	RA10 0148
		96	80,000	RA10 0196
AgraQuant® Afla 4/40	4-40 ppb	48	42,000	RA10 0248
		96	80,000	RA10 0296

保存: 2～8℃、　　使用期限: 製造から12ヶ月

AgraQuant®は Romer Labs社の商標です。

- 適用: コーン、コーンミール、コーングルテンミール、ポップコーン、コーン／大豆混合物、大豆、粉砕米、マイロ、小麦、コットンシード、ピーナッツなど

  コーンジャームミールとコーングルテンフィードは反応性が異なるため、お問い合わせください。

- データ解析に使用するLog／Logit表計算ソフトは、ホームページよりダウンロードできます。
  http://www.autoprep.jp

測定手順

AgraQuant® Afla 1/20キットの場合

■ 溶液類の準備 ■

1. 70%(v/v)メタノールを準備します。
2. 洗浄液を準備します(蒸留水、脱イオン水または0.05%Tween20を含むPBS)。

■ 粉砕/抽出方法 ■

1. 検査対象試料から抜きとったサンプルをRomerSerise Ⅱ mill等で粉砕し、20メッシュスクリーンを75%以上が通るようにします。フィルターを通過したサンプルを完全に混ぜます。
2. 粉砕したサンプルから20gを量りとり、しっかり閉まるきれいな広口瓶にいれます。
3. 100mLの70%(v/v)メタノールを加え、広口びんを閉めます。
   注)サンプルと抽出液はそれぞれ1:5(w:v)の比率で抽出します。
4. ブレンダーまたは振とう機で3分間、激しく振ります。
5. 静置し、Whatman No.1のフィルターでろ過または、1000rpm×10分間遠心分離し、ろ液または上清を採り試験溶液とします。
   注)抽出液はpH6～8にあわせてください。
   過度のアルカリ、酸の条件では検査の結果に影響しますので検査の前に調節してください。

■ 測定方法 ■

注)すべての試薬とキット類は使用前に室温18～30℃に戻しておいてください。
8チャンネルのピペットを使用することをお奨めします。一回の実験でAFL標準液と合わせて48ウェル(6ストリップ)までの操作をお奨めします。
8チャンネルのピペットを使用しない場合は(シングルチャンネルのピペットを使用する場合)、一回の実験でAFL標準液と合わせて16ウェル(2ストリップ)までの操作をお奨めします。

1. 必要な数の青色の縁の希釈用ウェルをマイクロウェルホルダーにおきます。 希釈用ウェルは各AFL標準液(0, 1, 2, 4, 10 & 20ppb)または試験溶液にひとつ必要です。

2. 同じ数の抗アフラトキシン(AFL)抗体コートマイクロウェルをマイクロウェルホルダーにおきます。 使用しないマイクロウェルは乾燥剤といっしょにホイルの袋に戻し、テープで袋を再度封しておいてください。

3. 緑色のキャップのボトルから必要なアフラトキシン(AFL)酵素複合体液の量を量り(～240μL/ウェル または、2mL/ストリップ)、別の容器に入れます(例えば8チャンネルのピペットを使用するときは試薬リザーバー)。 8チャンネルのピペットでAFL酵素複合体液を200μLずつ青色の縁の希釈用ウェルに分注します。

4. シングルチャンネルピペットを用いて、AFL酵素複合体液200μLを分注した希釈用ウェルに、100μLずつAFL標準液または試験溶液を加えます。各AFL標準液または試験溶液にピペットは新しいものを使用します。 注)ピペットのチップに液が残っていないことを確認して下さい。

   8チャンネルピペットに新しいチップを付け、注意深く吸排出の操作を3回繰り返し混合します。 すばやく各希釈用ウェルから100μLをそれに対応する抗AFL抗体コートマイクロウェルに移します。 室温で15分間反応させます。
   注)マイクロウェルホルダーを揺り動かすとウェル間の汚染の原因となります。

5. マイクロウェルに入っている溶液を廃棄用びんに捨てます。 各マイクロウェルを洗浄液で満たしたのち、マイクロウェルを逆さにして空にします。この洗浄操作をさらに4回繰り返し、計5回洗浄します
   注)洗浄過程ではホルダーからウェルストリップが外れないように気をつけてください。 テープでウェルストリップをホルダーの縁に留めておくと、ウェルストリップが外れることがないでしょう。

6. 吸水性のペーパータオル数枚を平らな机の上に置き、そのタオルの上でホルダーにセットしたまま、マイクロウェルストリップを軽くたたき、5回の洗浄後、残っている洗浄液をできるだけ取り除きます。 マイクロウェルの底は乾いた布かタオルで拭きます。

7. 青色のキャップのボトルから必要な基質液を量り(～120μL/ウェルまたは1mL/ストリップ)、別の容器に入れます(例えば8チャンネルのピペットを使用するときは試薬リザーバー)。 8チャンネルのピペットで基質液を100μLずつマイクロウェルに分注します。 室温で5分間反応させます。

8. 赤色のキャップのボトルから必要な停止液を量り(～120μL/ウェルまたは1mL/ストリップ)、別の容器に入れます(例えば8チャンネルのピペットを使用するときは試薬リザーバー)。 8チャンネルのピペットで停止液を100μLずつマイクロウェルに分注します。 色は青色から黄色に変わります。

9. 450nmのフィルターを用いてマイクロプレートリーダーでストリップを読み取ります。 各マイクロウェルの吸光度を記録します。
   注)分析結果に影響を及ぼすことがあるので、読み取る前に各ウェルから気泡を取り除いてください。

測定手順図解

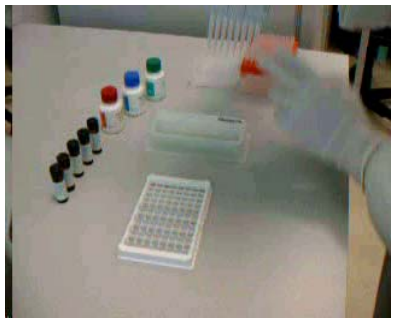
0分

Step 1.
70%メタノールで試料を3分間抽出する。

Step 2.
ろ過または遠心分離して不溶物を除き、試験溶液を得る。

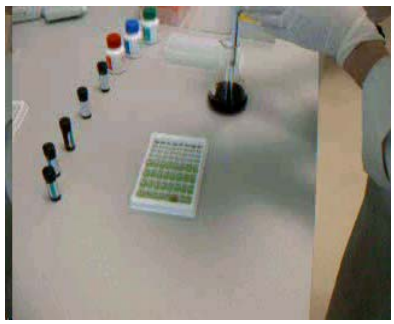
10分

Step 3.
希釈用ウェルと抗アフラトキシン(AFL)抗体コートマイクロウェルをホルダーにセットする。



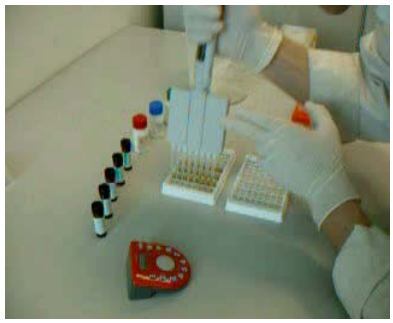
Step 4.
アフラトキシン(AFL)酵素複合体液を希釈用ウェルに200μLずつ分注する。

Step 5.
AFL標準液または試験溶液を100μLずつ希釈用ウェルに加え、混合する。



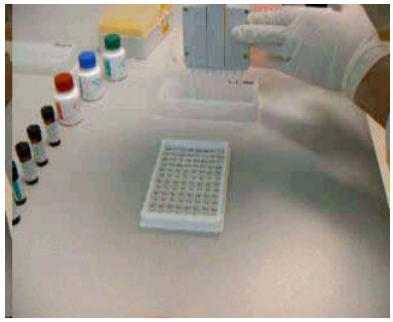
20分

Step 6.
抗AFL抗体コートマイクロウェルに混合液100μLを移し、15分間反応させる。

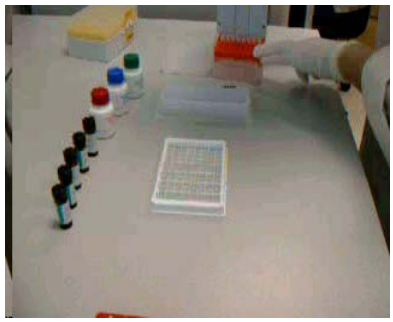


Step 7.
5回洗浄して未反応物を除く。

Step 8.
基質液100μLを添加し、5分間反応させる。



Step 9.
停止液100μLを添加する。

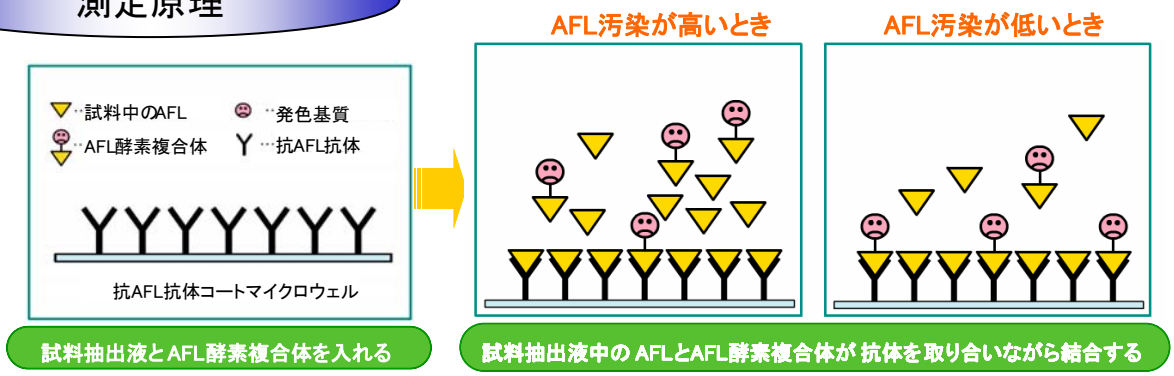


Step 10.
発色をマイクロプレートリーダーで測定する。

30分

注意： ご使用時には、必ず製品に同封されている英文取扱説明書をご参照ください。

測定原理



AgraQuant® Afla は直接競合法を用いた酵素免疫測定法(ELISA)です

食品等から抽出した試料抽出液を、アフラトキシン(AFL)酵素複合体と混合して抗アフラトキシン(AFL)抗体コートマイクロウェルに添加すると、試料抽出液に含まれるAFLとAFL酵素複合体は、抗体の結合部位を取り合いながら抗体と結合します。未結合物を洗浄して除いたのち、発色基質を加えると、基質はAFL酵素複合体の酵素と反応して青色に発色します。 この色の濃さは試料抽出液中のAFL濃度に反比例します。 次に停止液を加えて反応を停止させると、液は酸性となり、反応液は黄色に変化します。 この発色を450nmのマイクロプレートリーダーで測定します。

試料中のAFL濃度は、濃度既知のAFL標準液で作成した検量線を用いて求められます。

交差反応

＊ 抗体が見分けることの出来ない類似物質があります。
＊ 測定結果はアフラトキシンB1及びその類縁体の総和を意味します。測定結果が 6．0ppbを超える場合は、化学分析による定量分析を行うことをお勧めします。

B1	100%
B2	76%
G1	70%
G2	42%

＊ 改良のため仕様を予告なく変更することがあります。＊ 本資料中の数値は参考値であり保証値ではありません。

お問い合わせ、ご用命は下記特約店へお願いします。

輸入元
昭和電工株式会社
化学品事業部 特殊化学品部
分離精製(オートプレップ)グループ
URL: http://www.autoprep.jp